Aus dem Pathologischen Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. med. A. Werthemann)
Arbeit unter Leitung von PD Dr. F. Gloor

Elektronenmikroskopische Untersuchung der Übergangsstelle zwischen Herzmuskelfasern und Sehne beim Papillarmuskel des Säugerherzens

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

ALEX MATTER

von Pieterlen (Kt. Bern)

1966

Juris Druck + Verlag Zürich
1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546005_0091

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. med. A. Werthemann)

Arbeit unter Leitung von PD Dr. F. Gloor

Elektronenmikroskopische Untersuchung der Übergangsstelle zwischen Herzmuskelfasern und Sehne beim Papillarmuskel des Säugerherzens

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

ALEX MATTER

von Pieterlen (Kt. Bern)

Juris Druck + Verlag Zürich
1967

Von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. A. Werthemann

Tag der Promotion: 29. Juni 1966

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

EINLEITUNG

Der Uebergang der Skelettmuskelfasern in die Sehne ist lichtmikroskopisch eingehend untersucht worden. Eine einheitliche Auffassung konnte jedoch nicht erzielt werden. Während einige Autoren annahmen, dass ein fliessender Uebergang zwischen Skelettmuskel- und Sehnenfasern bestehe (Kontinuitätstheorie) [Butcher (8), Carr (9), Goerttler (18), Korschelt (29), Lubosch (31), Sobotta (51), Schmidt (47), Schultze (48), Studnicka (52), u.a.], vertraten andere Untersucher die Ansicht, dass sich die kollagenen Fibrillen aussen, die Myofibrillen innen am Sarkolemm anheften, dass also eine deutliche Trennung des bindegewebigen Anteils vom muskulären bestehe (Kontiguitätstheorie) [Baldwin (1), Häggqvist (20-22), Herwerden (25), Rydén und Wohlfahrt (45) u.a.]. Eine dritte Gruppe schliesslich postulierte, dass beide Arten von Verbindungen zwischen Muskel- und Sehnengewebe nebeneinander vorkommen können [Clara (11)].

Mit dieser rein morphologischen Fragestellung war die funktionelle eng verbunden. So befasste sich schon Péterfi (37) mit der Formänderung der Sarkolemmeinstülpungen des Faserendes während der Kontraktion und Erschlaffung, insbesondere auch mit der Gewebeschrumpfung als Auswirkung gewisser Fixationsmittel. Er deckte dabei mannigfache Artefakte auf, die frühere Autoren veranlasst hatten, für die Kontinuitätstheorie einzutreten. Petersen (38) wies darauf hin, dass die Kraftübertragung nicht nur am Faserende, sondern längs des ganzen Muskelfaserschlauchs erfolge.

Wesentliche Fortschritte wurden durch die Anwendung des Elektronenmikroskopes erzielt. Porter (40) beschrieb bei Amblystoma punctatum ein durchgehendes, nirgends unterbrochenes, dreischichtiges Sarkolemm: eine äussere, fibröse Lage ist durch einen elektronenoptisch leeren Spalt von einer inneren, nicht fibrösen Lage getrennt. Couteaux (12) zeigte an der Rückenflosse von Hippocampus, dass eine Insertion des Myofibrillen an der inneren Sarkolemmembran indirekt über feinste, ca. 1 μ lange Fibrillen entsteht. In weiteren Arbeiten wiesen auch Gelber, Moore und Ruska (17) und Schwarzacher nach, dass das Sarkolemm eine durchgehende, allseitig geschlossene Membran bildet. Schwarzacher (49) zeigte ferner bei seinen Untersuchungen am m. rectus abdominis des Frosches und der Maus, wie zahlreiche Krypten und Fortsätze die Oberfläche des Sarkolemms im Gebiet des Faserendes stark vergrössern. Er misst dieser Oberflächenvergrösserung eine besondere Bedeutung für die Kraftübertragung bei. So

erbrachten die elektronenmikroskopischen Beobachtungen eindeutige Belege zugunsten der Kontiguitätstheorie. Damit dürfte für den Skelettmuskel die Diskontinuität von Myofibrillen und Bindegewebsfibrillen gesichert sein.

Demgegenüber sind die Beziehungen von Muskelfaserenden und Bindegewebe beim Herzmuskel weniger intensiv untersucht worden. In der sehr ausführlichen Diskussion um das Sarkolemm beschrieben Ballotta (2), Bruno (7), Chlopkow (10) die Grenzmembran der Muskelfasern als zweischichtig: ein faseriges, feinstes Bindegewebsgerüst sollte einem dünnen, sarkoplasmatischen Häutchen aufliegen. Andere Autoren fassten das Sarkolemm entweder nur als protoplasmatisches Oberflächenhäutchen [Heidenhain (24)] oder als rein bindegewebige Membran auf [Hoehl (26), Pappenheimer (36)]. Bei der Annahme von Zellgrenzen stellte sich sogleich die Frage nach dem Zusammenhalt der einzelnen Zellen und der Bedeutung der Glanzstreifen, wobei die Existenz einer Kittsubstanz erörtert wurde [Körner (28)]. Am eingehendsten wurde die Beziehung von Sehne zum Herzmuskel von Quast (41), einem Anhänger der Kontinuitätstheorie, untersucht.

Die einzige uns bekannte elektronenoptische Arbeit [Schippel und Reissig (46)] betont die Diskontinuität zwischen Myofibrillen und Sehne, lässt aber einige Punkte ausseracht, denen wir im folgenden unsere Aufmerksamkeit zuwenden wollen.

MATERIAL UND METHODEN

Die Untersuchung führten wir an den Papillarmuskeln der Tricuspidalis des Katzen-, Ratten- und Kaninchenherzens durch. Die Tiere wurden in Numal-Narkose (intraperitoneal 0,6/kg Körpergewicht) thoracotomiert und die Enden der Papillarmuskeln mit ihren chordae tendinae entnommen. Das Gewebe wurde während zwei Stunden in eisgekühlter Bichromat-Osmiumtetroxyd-Lösung [Dalton (13)] fixiert, die mit s-Collidine bei einem pH-Wert von 7,5 gepuffert war. Mehrere Muskelsehnenpräparate wurden vor und während der Fixation in der Längsrichtung aufgespannt, um die in der Längsrichtung auftretende Schrumpfung zu vermeiden; es verblieb die Schrumpfung in der Querrichtung. Bei der Einbettung in Araldit "Fluka" achteten wir darauf, dass die Längsrichtung des Muskels in die spätere Schnittebene fiel. Dies war dank der spitz zulaufenden Enden der Papillarmuskeln rela-

tiv leicht möglich. An 0,5 µ dicken Schnitten konnten wir im Phasenkontrastmikroskop anhand des Sarkomeranabstandes beurteilen, welche Muskelfasern am genauesten in der Längsrichtung getroffen waren. Diese Fasern wurden zur Herstellung der Feinschnitte ausgewählt. Anschliessend wurden die Schnitte mit Bleicitrat [Reynolds (43)] kontrastiert und mit einem Hitachi HS-7 Elektronenmikroskop bei 50 kV Strahlspannung untersucht.

Mit Hilfe dieser Technik lässt sich vermeiden, dass Muskelfaserenden mit schräg geschnittenen Muskelfasern verwechselt werden.

BEFUNDE

Lichtmikroskopisch stellt man fest, dass die konische Verjüngung des Papillarmuskels dadurch zustandekommt, dass einerseits die achsenferneren Muskelfasern weiter entfernt vom Sehnenansatzpunkt endigen, andererseits die einzelnen Muskelfasern selbst sich verjüngen und ihre zugespitzten Enden der Muskelachse zuneigen. Elektronenmikroskopisch fällt ein Sarkolemm auf, das nirgends durchbrochen ist und an den Faserenden Einbuchtungen zeigt, die ungefähr die Tiefe eines Sarkomers erreichen. Die Zellorganellen verlieren ihre regelmässige Anordnung, doch sind Mitochondrien, sarkoplasmatisches Retikulum, Glykogen und Ribosomen reichlich anzutreffen.

Die Myofibrillen endigen alle am Sarkolemm, und zwar in einer verdichteten Zone innerhalb der Cytomembran. An dieser Stelle ist auch kein Spalt nachzuweisen zwischen Basalmembran und Cytomembran, so dass diese Region als ein besonders inniger Kontaktpunkt zwischen Sarkolemm und Myofibrillen erscheint. Dieser Eindruck wird noch verstärkt durch die reichlich auftretenden Elementarfibrillen, die den Zusammenhalt zwischen Basalmembran und den weiter aussen liegenden kollagenen Fasern vermitteln. Die ganze Kontaktregion möchten wir im folgenden in Anlehnung an Horstmann (27) Halbdesmosom nennen.

Die Fibrocyten haben oft eine enge Beziehung zu den Muskelfaserenden. Ihre schlanken Ausläufer können bis in die Sarkolemmeinstülpungen hineinragen und mit dem Sarkolemm Desmosomen bilden.

Schrägschnitte sind leicht zu erkennen, indem sie keine Einbuchtungen aufweisen, die Myofibrillen in einiger Distanz vor dem Sarkolemm endigen, also keine Halbdesmosomen bilden und auch keine Beziehungen zu Fibrocyten aufweisen.

DISKUSSION

Unsere Untersuchungen haben also auch für den Herzmuskel-Sehnenübergang eine Diskontinuität ergeben, wie sie für den Skelettmuskel bereits bekannt war. Die Art der Befestigung der Myofibrillen in Halbdesmosomen lässt sich der Befestigung am Diskus intercalaris zur Seite stellen: in beiden Fällen findet sich eine ca. 0,1 μ dicke, verdichtete Schicht, in die die I-Filamente einstrahlen, so dass eine Analogie zur von Sjöstrand (50) beschriebenen S-Region besteht.

Ein Vergleich unserer Befunde mit dem Skelettmuskel ergibt, dass die Art und Weise der Befestigung der Myofibrillen gleich ist, dass aber beim Skelettmuskel sehr viel mehr, tiefere und regelmässiger angeordnete Sarkolemmeinstülpungen vorhanden sind, die Oberflächenvergrösserung am Sehnenansatz also sehr ausgesprochen ist. Verzweigte Einstülpungen haben wir beim Herzmuskel nie gefunden. Die Deutung der Befunde stellt aber am Faserende besondere Probleme, da sowohl Fixation als auch Einbettung selten einwandfrei gelingen. So sind auch diese Einstülpungen vom Kontraktionszustand des Muskels abhängig. Gegenüber den Befunden von Schippel und Reissig (46) möchten wir betonen, dass höchstwahrscheinlich alle Myofibrillen am Sarkolemm endigen.

Bei der glatten Muskulatur verhält es sich sehr ähnlich: in eigenen Untersuchungen konnten wir feststellen, dass die Myofilamente in mehrere verdichtete Regionen einstrahlen, allerdings ohne Beziehung zu einer verdickten Basalmembran zu haben. Auch sind keine Einfaltungen zu sehen. Die Art der Befestigung der Myofibrillen an der Cytomembran ist also bei allen Muskelarten ausserordentlich ähnlich; Unterschiede zeigen sich nur bei den Einfaltungen und dem Aufbau der Sehne.

Die Frage der Kraftübertragung ist damit noch nicht geklärt. Für beide Möglichkeiten besteht ein morphologisches Substrat: bei der Kraftübertragung längs der Muskelfaser die Basalmembran, bei der Kraftübertragung am Muskelfaserende die Halbdesmosomen. Wahrscheinlich spielen beide Mechanismen eine Rolle.

ZUSAMMENFASSUNG

In einer elektronenmikroskopischen Untersuchung der Uebergangsstelle zwischen Papillarmuskel und Sehne am Katzen-, Kaninchen- und Rattenherz wurden folgende Befunde erhoben:

1. Das Sarkolemm besteht aus einer kontinuierlichen, nirgends unterbrochenen, dreischichtigen Membran. Die innere, cytoplasmatische Schicht ist durch einen elektronenoptisch leeren Spalt von einer äusseren, fibrösen Schicht getrennt.

2. Am Muskelfaserende finden sich Zonen, wo die Myofibrillen mit dem Sarkolemm in Kontakt treten. Die Cytomembran ist dort stark verdickt und ohne Spalt mit der gleichfalls verdickten Basalmembran verbunden. Diese Kontaktstellen werden mit den S-Regionen [Sjöstrand] verglichen und Halbdesmosomen genannt.

3. Am Faserende finden sich Sarkolemmeinstülpungen, welche regellos verteilt und sehr variabel in ihrer Form und Anordnung sind. Deren funktionelle Bedeutung wird erörtert.

SUMMARY

The ultrastructure of the myo-tendon junction in mammalian myocardium is reported. The results are based on observations made on papillary muscles of the right ventricle from cats, rats and rabbits.

1. The sarcolemma consists of a continuous membrane, arranged in three layers, an inner one, homogenous, and an outer one, fibrous, both separated by a very thin layer without any electron density.

2. At the end of the muscle fiber there are characteristic zones ("half-desmosomes"), where the cytomembrane has thickened and is closely connected with the outer membrane ("basal membrane") of the sarcolemma. Also this outer membrane is condensed and thicker at these regions. In most cases we could observe a direct insertion of the myofibrils at the cytomembrane.

3. At the end of the muscle fiber the sarcolemma is irregularly indented. These indentations are very variable in their form, but they are deeper and more numerous if the muscles are slightly stretched in the longitudinal axis while fixation.

In the discussion these structures are compared with the intercalated discs and with the myo-tendon attachment of skeletal and smooth muscle, also the functional significance is discussed.

LITERATUR

1. Baldwin, W.M.: The relation of muscle fibrillae to tendon fibrillae in voluntary striped muscles of vertebrates. Morph.Jb. 45, 249 (1913).
2. Ballotta, F.: Contributo allo studio del tessuto reticulare del muscolo cardiaco nell'uomo e nei mammiferi. Arch.ital.Anat. 29, 109 (1932).
3. Benninghoff, A.: Ueber elastische Sehnen des Herzmuskels. II. Beitrag zur Frage der elastisch-muskulösen Systeme. Z. Zellforsch. 9, 1947 (1929).
4. Benninghoff, A.: Die Architektur des Herzmuskels. Eine vergleichend-anatomische und vergleichend-funktionelle Betrachtung. Morph.Jb. 67, 262 (1931).
5. Van Breemen, V.L.: Intercalated discs in heart muscle studied with the electron microscope. Anat.Rec. 117, 49 (1953).
6. Van Breemen, V.L.: Ultrastructure of human muscle. I. Observations on normal striated muscle fibers. Amer.J.Path. 37, 215 (1960).
7. Bruno, G.: Il sarcolemma della fibra del miocardio. Arch.ital.Anat. 23, 659 (1926).
8. Butcher, E.O.: The development of striated muscle and tendon from the caudal myotomes in the albino rat, and the significance of myotome-cell arrangement. Amer.J.Path. 53, 177 (1933).
9. Carr, R.W.: Muscle-tendon attachment in the striated muscle of the fetal pig. Amer.J.Anat. 49, 1 (1931).
10. Chlopkow, A.: Zur Frage der Struktur der Herzmuskelsarkolemms der Säugetiere. Anat.Anz. 61, 432 (1926).
11. Clara, M.: Ueber die Kontinuität der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Z.mikr.-anat. Forsch. 23, 321 (1931).
12. Couteaux, M.R.: Observations sur l'ultrastructure de la jonction musculotendineuse. C.R.Acad.Sci. 249, 964 (1959).
13. Dalton, A.J.: A chrome-osmium fixative for electron microscopy. Anat.Rec. 121, 281 (1955).
14. Doerr/Bargmann: Das Herz des Menschen; Band 1 (Thieme 1963).
15. v. Ebner, V.: Ueber die natürlichen Enden der Herzmuskelfasern. Verhandl. morph.-physiol.Ges. Wien 1902/03.

16. v. Ebner, V.: Ueber den feineren Bau der Herzmuskelfasern, mit besonderer Rücksicht auf die Glanzstreifen. Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. math.-natur. Kl. Abt. III, S. 129, (1920).

17. Gelber, D., Moore, D.H., and Ruska, H.: Observations on the myo-tendon junction in mammalian skeletal muscle. Z. Zellforsch. 52, 396 (1960).

18. Goerttler, K.: Die Anordnung, Histologie und Histogenese der quergestreiften Muskulatur im menschlichen Stimmband. Z. Anat. Entw. Gesch. 115, 352 (1951).

19. Groth, W.: Beitrag zur Frage der Verbindung zwischen Muskelfaser und Sehne. Z. mikr.-anat. Forsch. 50, 380 (1941).

20. Häggqvist, G.: Die Natur und Bedeutung der Muskelgrundmembranen. Verh. Anat. Ges. 53, Erg. Heft, S. 71 (1920).

21. Häggqvist, G.: Ueber die Entwicklung und die Verbindungen des Sarkolemms. Anat. Anz. 53, 81 (1920).

22. Häggqvist, G.: Wie überträgt sich die Zugkraft der Muskeln auf die Sehnen? Anat. Anz. 53, 273 (1920).

23. Häggqvist, G.: Gewebe und Systeme der Muskulatur, in: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Band 2/4, Möllendorff-Bargmann (Springer; Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1956).

24. Heidenhain, M.: Plasma und Zelle; in: Handbuch der Anatomie des Menschen, von Bardeleben, 8, 507-686 (Fischer, Jena, 1911).

25. van Herwerden, M.A.: Ueber das Verhältnis von Sehnen- und Muskelfibrillen. Anat. Anz. 44, 193 (1913).

26. Hoehl, M.: Ueber das Verhältnis des Bindegewebes zur Muskulatur. Anat. Anz. 14, 253 (1898).

27. Horstmann, E.: Zur Elektronenmikroskopie der Haut. Arch. klin. exp. Dermatol. 211, 18 (1960).

28. Körner, F.: Ueber die Verknüpfung der Muskelfasern des Herzens durch gewisse Bindegewebsfasern des Perimysium internum. Z. mikr.-anat. Forsch. 40, 29 (1936).

29. Korschelt, E.: Einige Bemerkungen zur Frage des Muskelansatzes und der Muskelsehnenverbindung. Z. wiss. Zool. 151, 286 (1938).

30. Long, M.E.: Development of the muscle-tendon attachment in the rat. Amer.J.Anat. 81, 159 (1947).

31. Lubosch, W.: Muskel und Sehne. Ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie des Muskelsystems. Morph.Jb. 80, 89 (1937).

32. Mollier, G.: Beziehungen zwischen Form und Funktion der Sehnen im Muskel-Sehnen-Knochensystem. Morph.Jb. 79, 161 (1937).

33. Nauck, E. Th.: Die Wellung der Sehnenfasern, ihre Ursachen und ihre funktionelle Bedeutung. Morph.Jb. 68, 79 (1931).

34. Okamura, Chonosuke: Ueber die Kittsubstanz des Herzmuskels. Z.Anat.Entw. Gesch. 91, 538 (1930).

35. Palade, G.E.: A study of fixation for electron microscopy. J.Exp.Med. 95, 285 (1952).

36. Pappenheimer, A.M.: Ueber juvenile Muskalatrophie; zugleich ein Beitrag zur normalen Histologie des Sarkolemms. Beitr.path.Anat. 44, 430 (1908).

37. Péterfi, T.: Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen. Arch.mikr.Anat. 83, 1 (1913).

38. Petersen, H.: Histologie und mikroskopische Anatomie. (Bergmann, München, 1935).

39. Pàlos, L.: Ueber den Zusammenhang zwischen Sehnen- und Muskelfasern. Z.mikr.-anat.Forsch. 51, 654 (1942).

40. Porter, K.R.: The myo-tendon junction in the larval forms of Amblyostoma punctatum. Anat.Rec. 118, 342 (1954).

41. Quast, P.: Zur Histologie der Muskel-Sehnengrenze und über das interfaszikuläre Bindegewebe des Herzmuskels. Z.mikr.-anat.Forsch. 4, 1 (1925).

42. v. Rényi, G.: Gibt es einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen Muskel- und Sehnenfibrillen während der Entwicklung der Muskelfaser? Anat. Anz. 58, 339 (1924).

43. Reynolds, Ed. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208 (1954).

44. Ruska, H.: Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Histologie des Skelettmuskels kleiner Säugetiere. Z.Naturforsch. 9b, 358 (1954).

45. Rydén, Å. und Wohlfahrt, G.: Beitrag zur Erforschung der Kontraktilität des Sarkoplasmas nebst Beobachtungen betreffs des Uebergangs des Muskels

in die Sehne. Z. mikr.-anat. Forsch. 29, 605 (1932).

46. Schippel, K. und Reissig, D.: Ueber die Feinstruktur der Befestigung der Chorda tendinea an der Herzmuskulatur. Z. mikr.-anat. Forsch. 75, 210-223 (1966).

47. Schmidt, W.J.: Die Verbindung der Myo- und Sehnenfibrillen polarisationsoptisch geprüft am Rückenflossenmuskel von Hippocampus. Z. Zellforsch. 24, 336 (1936).

48. Schultze, O.: Ueber den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Arch. mikr. Anat. 79, 307 (1912).

49. Schwarzacher, H.G.: Untersuchungen über die Skelettmuskel-Sehnenverbindung. Acta anat. 40, 59 (1960).

50. Sjöstrand, F.S., Andersson-Cedergren, E. and Dewey, M.M.: The ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. J. Ultrastructure Res. 1, 271 (1958).

51. Sobotta, J.: Ueber den Zusammenhang von Muskel und Sehne. Z. mikr.-anat. Forsch. 1, 229 (1924).

52. Studnička, F.K.: Ueber die Beziehungen zwischen Muskelfasern und Bindegewebsfibrillen. Z. Zellforsch. 26, 36 (1937).

53. Zawarzin, A.: Essays in comparative histology of muscular tissue. II. On the transition of muscular fibre into tendon. Arch. russ. Anat. Histol. Embryol. 17, 163 (1937).

Abb. 1 Papillarmuskel, Katze. Vergrösserung 15 000x. Dieser Muskel wurde während der Fixation in der Längsrichtung ohne Zug aufgespannt. Zahlreiche Einstülpungen (Es) an der Kontaktstelle von Muskelende und Sehne. M Myofibrillen, F Fibrocytenfortsätze, kollF kollagene Fasern.

Abb. 2 Papillarmuskel, Ratte. Vergrösserung 21 000x. Die Myofibrillen treten direkt an das verdickte Sarkolemm heran und bilden zusammen mit den Elementarfibrillen(El) die Halbdesmosomen (zwischen den Pfeilen). F Fibrocytenausläufer, kollF kollagene Fasern.